Archive of SID

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۸ اسفند سال ۱۳۹۱ (۳۳۷-۳۲۱)

کاربرد و خصوصیات نانو ذرات لیپیدی جامد و حامل های لیپیدی نانو ساختار به عنوان سیستم های حامل دارو

حمیدرضا کلیدری[۱]
جعفر اکبری[۲]
مجید سعیدی[۲]

چکیده

امروزه نانو ذرات لیپیدی جامد (SLN) و حامل های لیپیدی نانوساختار (NLC) به عنوان سیستم‌های حامل برای کاربردهای زیادی مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. SLN ها از چربی‌های خالص جامد تشکیل شده اند، در حالی‌که NLC ها از ماتریکس جامدی تشکیل شده‌اند که ذرات نانو چربی مایع را در خود جای داده‌اند. این سیستم‌ها در مقایسه با سایر سیستم‌های کلوئیدی مزیت های بیشتری را شامل می‌شود. از جمله می‌توان به کنترل آزاد سازی دارو و افزایش در پایداری شیمیایی داروهای وارد شده به آن‌ها اشاره نمود. علاوه بر این حامل‌های ایمنی بوده که می‌توانند به راحتی در مقیاس بالا تولید شوند. در این مقاله، مروری بر مواد رایج در تولید، روش تولید، ویژگی‌ها و پایداری فیزیکی این سیستم‌ها صورت گرفته است.

واژه های کلیدی: SLN, NLC، روش‌های آماده سازی، پایداری

مقدمه

امروزه با تهیه نانو ذرات دارو، می‌توان به ویژگی‌های بی‌نظیری دست یافت که این امر منجر به افزایش عملکرد و تنوع در اشکال دارویی آن خواهد شد. فرمولاسیون دقیق این ذرات منجر به پایداری بیشتر آن‌ها شده و می‌تواند سرعت در انحلال و رسیدن به سطوح بیولوژیک را افزایش داده که نتیجه آن سرعت بخشی به اثر درمانی و بهبود قابلیت زیستی آن‌ها خواهد بود. نشان داده شده است که توسعه داروهای جدید نیز به تنهایی در درمان دارویی مؤثر نیست. حلالیت کم برخی از داروها در آب و کم بودن قابلیت زیستی مولکول‌های دارویی جدید یکی از مشکلات اساسی آن‌ها می‌باشد بدین منظور نیاز به توسعه سیستم‌های دارورسانی که به این مشکلات فائق آید ضروری به نظر می‌رسد. این سیستم‌های حامل باید غیر سمی بوده، ظرفیت پذیرش مقدار کافی دارو را داشته، و علاوه بر این امکان هدفمند کردن و کنترل آزادسازی دارو در آن‌ها وجود داشته باشد(۱).

Solid Lipid Nanoparticles (SLN) یا نانو ذرات لیپیدی و Nanostructured Lipid Carriers (NLC) یا حامل‌های لیپیدی نانو ساختار به عنوان سیستم‌های حامل برای کاربردهای بسیاری مورد تحقیق قرار گرفته‌اند. SLN ها حاوی چربی‌های جامد خالص هستند. در حالی‌که NLC ها از ماتریکس جامدی که بخش‌های نانو در چربی‌های مایع در آن بدام افتاده‌اند، تشکیل شده

مؤلف مسئول: مجید سعیدی- ساری: کیلومتر ۱۸ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: msaeedi@mazums.ac.ir
۱. دانشجوی دکترای علوم دارویی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. گروه داروسازی صنعتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۸/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۱۰/۱۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۱/۱۱/۳

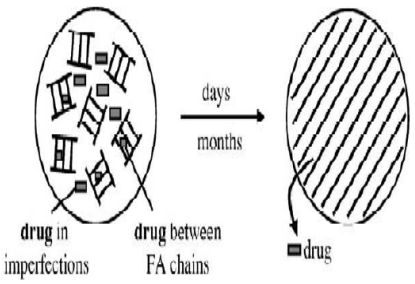
www.SID.ir

Archive of SID

است(۲). بسیاری از داروها با کاربردهای گوناگون با موفقیت کامل در NLC و SLN ها جای داده شده‌اند. این سیستم‌های دارو رسانی باعث آزاد سازی کنترل شده داروها می‌شوند و پایداری شیمیایی داروهای بدام افتاده در خود را افزایش می‌دهند. به‌علاوه این سیستم ها جزء حامل‌های ایمن بوده که می‌توان به راحتی در مقیاس بالا آن‌ها را تولید نمود. علاوه بر روش‌های رایج برای طولانی اثر کردن و کنترل کردن رهش دارو، از SLNها نیز برای این امر استفاده می شود(۵-۳).

۱. نانو ذرات لیپیدی (SLN)

در اوایل سال ۱۹۹۰ میلادی، SLN به عنوان یک سیستم حامل متفاوت از امولسیون‌ها، لیپوزوم‌ها و نانو ذرات پلیمریک معرفی شد. در ابتدای راه، مطالعات به‌وسیله سه گروه از محققین به نام‌های مولر، کاسکو و وستسن توسعه یافت. SLN به عنوان یک حمل کننده کلوئیدی جهت انتقال داروها با حلالیت محدود شناخته می‌شود(۶). این سیستم‌ها با جایگزینی فاز روغنی امولسیون o/w با یک روغن جامد یا مخلوطی از روغن‌های جامد، یعنی مخلوطی از ذرات ماتریکس لیپیدی که در دمای اتاق و در بدن جامد می‌باشند، تشکیل می‌شوند. SLN از ۰/۱ تا ۳۰ درصد چربی جامد که در فاز مایع پراکنده شده است تشکیل می‌شود و در صورت لزوم از ۰/۵ تا ۵ درصد سورفکتانت نیز درتهیه آن استفاده می گردد. میانگین ذرات SLN محدوده‌ای بین ۴۰ تا ۱۰۰۰ نانو متر را در بر می‌گیرد. مطالعات نشان داده که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پایداری داروهایی که در SLN بارگیری شده‌اند وابسته به خواص داروها و اجزاء به‌کار رفته در آن می باشد(۷). انتخاب مناسب چربی‌ها، سورفکتانت‌ها، ترکیباتشان و مقدار آن‌ها می‌تواند اندازه ذرات، پایداری طولانی مدت طی ذخیره‌سازی، بارگیری دارو و رفتارهای آزادسازی را تحت تأثیر قرار داده و این بدان معنی است که برای هر دارو نیاز به فرمول خاصی برای SLN می‌باشد(۸). مشکلاتی مانند محدودیت بارگذاری دارو، آزادسازی نامنظم دارو و دفع دارو طی نگهداری در تهیه SLN ها، استفاده از آن‌ها را با محدودیت مواجه می‌سازند(۹).



تصویر شماره ۱: مکانیسم دفع دارو در طی ذخیره سازی از SLN: تغییر وضعیت به کریستال لیپیدی منظم

۲. حامل های لیپیدی نانو ساختار (NLC)

NLC ها به علت توانایی بارگیری بالای دارو و پایداری مناسبشان در مقایسه با SLN ها، در اواخر سال ۱۹۹۰ معرفی گردیدند(۱۰). جهت تولید NLC سه روش پیشنهاد گردیده است:

در روش نخست چربی‌هایی مانند گلیسریدها که از اسیدهای چرب مختلفی تشکیل شده‌اند با هم مخلوط می‌شوند. استفاده از چربی‌های مختلف منجر به فاصله بیشتر بین زنجیره‌های اسید چرب گلیسیریدها در کریستال شده و بنابراین فضای بیشتری برای ورود مولکول‌های میهمان ایجاد می‌نمایند. مخلوطی از چربی‌های جامد و مقدار کمی از چربی‌های مایع سبب افزایش توان ورود دارو به داخل ماتریکس خواهد شد. که به آن مدل ناقص NLC می گویند.

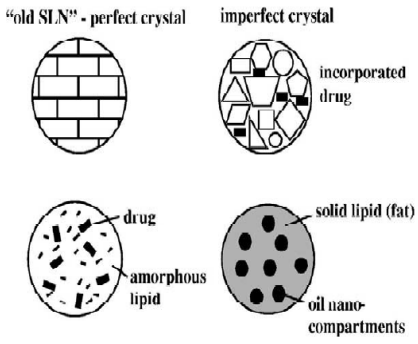
در روش دوم چنان‌چه مقدار بالایی از روغن با چربی جامد مخلوط شود انواع مختلفی از نانو ساختار قابل دستیابی به‌دست خواهد آمد. در این موارد حلالیت مولکول‌های روغن در چربی جامد افزایش یافته که منجر به جداشدن فازها و شکل گیری نانو ساختارهای روغنی درون ماتریکس چربی جامد خواهد شد(۱۱).

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داده شده است که خیلی از داروها حلالیت بیشتری در روغن‌ها نسبت به چربی‌های جامد دارند که این امر به حل شدن آن‌ها در روغن و جلوگیری از دفع آن توسط چربی‌های جامد اطراف آن کمک خواهد نمود. این مدل NLC چندگانه نام دارد و بسیار شبیه به امولسیون‌های w/o/w می‌باشد، چراکه در این‌جا هم پراکندگی روغن در جامد و هم چربی در آب رخ داده است. اضافه کردن چربی‌های مایع منجر به شکل گیری جمعیتی از ذرات کوچک خواهد شد که این امر به پویایی ماتریکس کمک خواهد نمود(۱۲، ۱۳).

در روش سوم که به نوع بی شکل SLN معروف است و در آن نیز از ذرات جامد استفاده می‌شود اما با اختلاط چربی‌های خاص (مانند هیدروکسی اکتا کوزانیل هیدروکسی استئارات و ایزوپروپیل مریستات) از ایجاد کریستال‌هایی که در اثر سرد شدن ایجاد می‌گردد جلوگیری می‌شود(۱۲).



تصویر شماره ۲: سه نوع NLC در مقایسه با ماتریکس منظم SLN بالا سمت چپ)، انواع NLC : نوع ناقص (بالا سمت راست)، نوع بی نظم (پایین سمت چپ)، نوع چندگانه (پایین سمت راست)

۳. مواد رایج مورد استفاده در تولید SLN و NLC ها:

محدوده وسیعی از چربی‌ها شامل اسیدهای چرب، مونو- دی یا تری گلیسیریدها، مخلوط‌های گلیسریدی یا موم‌ها می توانند در تهیه SLN ها به‌کار روند. چربی‌های جامدی که در تولید NLC ها به‌کار می‌روند عبارتند از: تری پالمیتین، گلیسریل بیهنات (کامپریتول)، گلیسریل دی استئارات (پرسیرول) و ستیل پالمیتات. جهت تهیه ماتریکس ذرات، چربی‌های جامد به نسبت‌های ۷۰ به ۳۰ تا ۹۹/۱ به ۰/۱ با چربی‌های مایع اختلاط می‌یابند. به خاطر حضور روغن در این ماتریکس‌ها، نقطه ذوب این ترکیبات نسبت به چربی‌های جامد خالص پایین‌تر می باشد. گرچه مخلوط حاصله در دمای اتاق و دمای بدن جامد خواهد بود محتوای جامد NLC می‌تواند تا بالای ۹۵ درصد افزایش یابد(۱۴). تری پالمتین، تری گلیسیریدی است که عموماً به عنوان چربی جامد در SLN ها و NLC ها جهت تسهیل امولسیفیکاسیون و تشکیل نانو ذرات جامد به‌کار می‌رود. به جهت سازگاری و پایداری آن فسفولیپیدهایی را که بشکل طبیعی از آن مشتق شده‌اند را به عنوان امولسیفایرهای اصلی در تهیه امولسیون‌های تزریقی به‌کار می‌برند(۱۵). گلوسیر (Gelucire) یک چربی افزودنی چند منظوره متشکل از مونو، دی و تری گلیسیریدها و مونو، دی استرهای اسید چرب پلی اتیلن گلایکول می‌باشد(۱۶). گلوسیر یکی از چربی‌های افزودنی است که از اختلاط استرهای اسید چرب پلی‌اتیلن گلایکول و گلیسریدها به‌دست می‌آید. وجود ترکیب خاصی که با سورفکتانت‌ها، کمک سورفکتانت‌ها و فاز چربی برای تولید آن صورت گرفته است به عنوان امولسیفایر، افزایش دهنده حلالیت دارو و تشکیل گرانول مورد توجه قرار گرفته است. ورود آن‌ها به نانو ساختارهای چربی ممکن است در افزایش بارگیری دارو در اجزاء آبدوست مفید باشد(۱۷). از گلوسیر به عنوان سورفکتانت، کمک سورفکتانت و ماتریکس‌های لیپیدی در سیستم‌های دارورسانی می‌توان استفاده نمود(۱۸). ویتامین E (توکوفرول) به تازگی به عنوان عاملی برای انتقال داروها مطرح شده است(۱۹). در این مطالعات که روغن‌های سبزیجات به عنوان فاز داخلی و فسفولیپیدها به عنوان امولسیفایر در نانو ذرات چربی مورد استفاده قرار گرفته اند، ویتامین E به عنوان روغن مایع برای توسعه NLC ها مورد استفاده قرارگرفته

www.SID.ir

Archive of SID

است. مینگ و همکاران نشان دادند که با افزایش مقدار ویتامین E اندازه ذرات کاهش می‌یابد(۲۰).

جدول شماره ۱: نمونه‌هایی از مواد چرب و امولسیون کننده‌های مورد استفاده در تهیه نانو ذرات لیپیدی جامد(۲۱)

لیپید	چربیهای سخت	امولسیون کننده
Lipids Literature	Witepsol® W 35	Soybean lecithin (Lipoid® S 75, Lipoid® S 100)
Triglycerides	Witepsol® H 35	Egg lecithin (Lipoid® E 80)
Tricaprin	Witepsol® H 42	Phosphatidylcholine (Epikuron® 170, Epikuron 200)
Trilaurin	Witepsol® E 85	Poloxamer 188
Trimyristin	Glyceryl monostearate (Imwitor®900)	Poloxamer 182
Tripalmitin	Glyceryl behenate (Compritol® 888 ATO)	Poloxamer 407
Tristearin	Glyceryl palmitostearate (Precirol® ATO 5)	Poloxamine 908
Hydrogenated coco-glycerides	Cetyl palmitate	Tyloxapol
	Stearic acid	Polysorbate 20
	Palmitic acid	Polysorbate 60
	Decanoic acid	Polysorbate 80
	Behenic acid	Sodium cholate
	Acidan N12	Sodium glycocholate
		Taurocholic acid sodium salt
		Taurodeoxycholic acid sodium salt
		Butanol
		Butyric acid
		Dioctyl sodium sulfosuccinate
		Monooctylphosphoric acid sodium

۴. روش‌های آماده سازی SLN و NLC

روش‌های بسیاری جهت آماده سازی نانو ذرات چربی مورد استفاده قرار می گیرد. از جمله این روش‌ها، می‌توان به یکنواخت سازی با فشار بالا (High Pressure Homogenization) (۲۲)، روش میکروامولسیون (Microemulsion Technique) (۲۳)، روش امولسیون کنندگی- دیفوزیون حلال (Emulsification-Solvent Diffusion) (۲۴)، روش تزریق یا جایگزینی حلال (Solvent Injection or Solvent Displacement) (۲۵)، روش امولسیون مرکب (Multiple Emulsion Technique) (۲۶)، وارونگی فاز (Phase Inversion) (۲۷)، اولتراسونیکاسیون (Ultrasonication) (۱۱) و تکنیک تهیه با واسطه غشاء (Membrane Contractor Technique) (۲۸)، اشاره نمود.

پیش از آماده‌سازی فرمولاسیون NLC بایستی مطالعه‌ای دقیق جهت انتخاب فاز لیپیدی مناسب که توان بارگیری مواد را داخل خود داشته باشد انجام گیرد. بدین منظور مقدار زیادی از مواد افزودنی را در چربی‌های جامد ذوب شده مختلف حل می‌کنند و حداکثر مقدار موادی که در هر چربی می‌تواند حل شود را تعیین می‌نمایند. بعد از انحلال، مخلوط چربی و ماده درون آن در دمای اتاق جهت منجمد شدن سرد می‌شوند. این مخلوط منجمد (اگر این مواد در دمای اتاق جامد باشند) جهت حضور یا عدم حضور کریستال‌های مواد بارگیری شده مورد بررسی قرار می‌گیرند. اگر مواد وارد شده به SLN روغن باشد، قابلیت اختلاط دو ماده بدون از دست دادن خواص آن (Miscibility) (چربی ذوب‌شده و روغن) مورد بررسی قرار می‌گیرد. بعد از سرد شدن مخلوط در دمای اتاق دوباره چربی جامد می‌شود و تداخل روغن در ماتریکس چرب جامد مورد بررسی قرارمی‌گیرد. جهت بررسی مقداری از ماتریکس چرب را بر روی فیلتر کاغذی قرار داده و باقی ماندن یا عدم باقی ماندن لکه روغنی بر روی فیلتر بررسی می‌گردد. آنالیز کالریمتریک محلول جامد به‌دست آمده جهت بررسی حضور یا عدم حضور کریستال‌های مواد اضافه شده توسط Differential Scanning Calorimeter (DSC) می‌تواند انجام گیرد(۲۹).

۴-۱. روش یکنواخت سازی با فشار بالا

هموژنیزاسیون با فشار بالا با توجه به دارا بودن مزیت‌هایی مانند عدم استفاده از حلال‌های آلی، زمان کمتر جهت تولید و توان تولید در مقیاس بزرگ نسبت به سایر روش‌ها، از کارآیی بیشتری برخوردار می‌باشد. از این روش به‌طور وسیعی در صنایعی مانند صنایع غذایی (مانند شیر) و صنعت داروسازی استفاده می‌شود. هموژنیزاسیون پایداری محصول را افزایش داده، نیاز به مواد افزودنی را کم کرده و انعطاف در بارگذاری برخی داروها را بهبود می بخشد(۳۰). هموژنیزاسیون با فشار بالا، از ۱۹۵۰ برای تولید امولسیون‌های تزریقی مورد

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده قرار گرفته است. اولین گزارش در رابطه با استفاده از این روش جهت تولید نانو ذرات چربی در مقیاس بالا به حدود سال ۲۰۰۰ بر می گردد(۳۱). تولید نانوذرات چربی به ۲ روش هموژنیزاسیون سرد و هموژنیزاسیون گرم انجام می‌گیرد. در هر دو روش دارو در چربی ذوب شده در دمای حدود ۵ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از نقطه ذوب آن حل یا با آن اختلاط می یابد(۱).

۴-۱-۱. روش یکنواخت سازی در دمای بالا

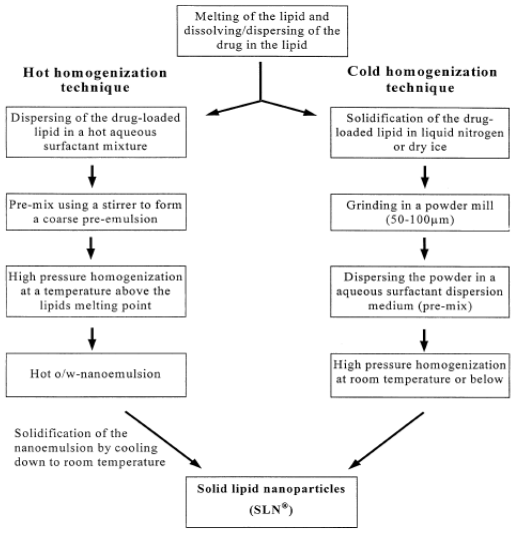
در این روش دارو در چربی ذوب شده حل می‌شود، سپس درون فاز آبی داغ حاوی سورفکتانت پراکنده (امولسیون) می‌گردد. پراکنده کردن توسط یک همزن با سرعت بالا انجام می‌گیرد (مانند اولترا توراکس). ابتدا امولسیون اولیه دارای ذرات درشت تر تشکیل می‌شود و سپس توسط هموژنیزاسیون با فشار بالا، عمل هموژنیزه کردن با فشاری در محدوده ۱۰۰ تا ۱۵۰۰ بار انجام می گیرد. سرد کردن نانو امولسیون o/w به‌دست آمده در دمای اتاق یا پائین‌تر منجر به تبلور چربی و شکل گیری نانو ذرات لیپیدی می‌گردد. از این روش می‌توان برای داروهای چربی دوست و داروهای نامحلول استفاده نمود اما برای داروهای آب‌دوست مناسب نمی‌باشد. طی هموژنیزاسیون، جزء آب‌دوست دارو به فاز آبی تمایل می‌یابد و در نتیجه بازدهی به‌دام انداختن دارو کاهش می‌یابد. افزون بر آن، هموژنیزاسیون می‌تواند در دمایی به مقدار جزیی کمتر از نقطه ذوب چربی (به عنوان نمونه دمایی پایین‌تر از ۵ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد) انجام گیرد که به نظر می‌رسد منجر به نرم شدن چربی طی روند یک‌نواخت سازی برای داروهای آب‌دوست خواهد شد. دمای هموژنیزاسیون بایستی به دقت انتخاب گردد، زیرا ممکن است داروهای آب‌دوست در فاز آبی از دست بروند(۳۲).

۴-۱-۲. روش یکنواخت سازی در دمای پایین

این روش برای داروهای آب‌دوست بسیار سودمند است. بر اساس این روش، دارو به داخل چربی ذوب شده وارد می‌شود و چنان‌چه حلالیت داروی آب‌دوست در چربی بسیار پایین باشد، می‌توان از سورفکتانت برای حل شدن دارو استفاده نمود. چربی ذوب شده حاوی دارو در نیتروژن مایع یا یخ خشک، برای افزایش شکنندگی چربی و سادگی در فرآیند آسیاب، قرار داده می‌شود. پس از آسیاب کردن (به عنوان نمونه با استفاده از هاون) میکروذراتی به‌دست می‌آیند (تقریباً ۵۰ تا ۱۰۰ میکرومتر) که درون محلول سورفکتانت آبی سرد پراکنده شده اند و این سوسپانسیون لیپیدی در دمای اتاق یا پایینتر هموژنیزه می‌شود (صفر درجه سانتی‌گراد). بسیاری از داروهایی را که به گرما حساس هستند را می‌توان به‌وسیله این روش به داخل نانو ذرات لیپیدی وارد نمود، زیرا قرار گرفتن دارو در معرض گرما نسبتاً کوتاه می‌باشد. اغلب نانو ذرات تولید شده به‌وسیله هموژنیزاسیون داغ اندازه ذره‌ای زیر ۵۰۰ نانومتر داشته و محتوای میکرو ذرات آن کم می باشد. در مقابل، ذرات با سایز درشت‌تر با توزیع اندازه ذره‌ای بیشتر در SLNهایی دیده می‌شود که به‌وسیله هموژنیزاسیون سرد در مقایسه با هموژنیزاسیون گرم به‌دست می‌آیند(۳۳). همچنین، توزیع اندازه ذره‌ای پایین، تولید پایین میکروذرات، میزان پراکندگی بالای ذرات لیپیدی، عدم استفاده از حلال‌های آلی از خصوصیات هموژنیزاسیون داغ می‌باشد. قابل قبول بودن تجهیزات هموژنیزاسیون توسط مؤسسات استاندارد (Uthorities Aregulatory) (حتی برای فرآورده‌های تزریقی)، امکان سنجش و ارزیابی و دسترسی به خط تولید هموژنیزاسیون در صنعت، از مزیت‌های تکنیک‌های هموژنیزاسیون با فشار بالا (گرم و سرد) نسبت به سایر روش‌ها می باشد. بسته به مقیاس تولید هموژنیزاسیون امکان تولید محدوده وسیعی از محصولات وجود دارد. افزایش درجه حرارت معمولاً ویسکوزیته چربی و فاز مایع را کاهش داده و بازده هموژنیزاسیون را افزایش می‌دهد. به‌عبارت دیگر افزایش درجه حرارت هموژنیزاسیون باعث کاهش اندازه ذره ای خواهد شد(۳۴).

www.SID.ir

Archive of SID



تصویر شماره ۳: مقایسه شمای تولید SLN به دو روش حرارت بالا و پایین(۳۲)

۴-۲. میکرو امولسیون های روغن در آب (o/w)

در این روش کـه توسـط کاسـکو معرفـی و توسـعه یافت، نانو ذرات لیپیدی بوسیله پراکنـده نمـودن میکـرو امولسیون گرم o/w در یک محیط آبـی سـرد زیـر یـک همزن مکانیکی تشکیل می‌شوند. چربی در دمـای تعیـین شده ذوب می‌شود و فاز آبی کـه شـامل سـورفکتانت یـا سورفکتانت‌های کمکی مـی‌باشـد تـا دمـای مشـابه گـرم شده و زیر همزن به چربی ذوب شده اضـافه مـی گـردد. این میکروامولسیون گرم، سپس زیر همزن در آب سـرد (۲ تا ۳ درجه سانتی گراد) پراکنده می شود که نتیجه آن ته نشینی ذرات با سایز کوچک می‌باشد. شاخصه نسـبت حجمی میکروامولسیون داغ به آب سرد در محدوده ۱ به ۲۵ تا ۱ به ۵۰ می باشد. تولید نانو ذرات لیپیدی از طریـق میکروامولسیون‌ها، به سرعت ایجاد قطرات چربـی بسـیار ریـز و شکسـته شـدن میکروامولسـیون وابسـته اسـت. اسیدهای چرب دارای نقطه ذوب پایین (۵۰ تا ۷۰ درجـه سانتی‌گراد) مانند اسـید اسـتئاریک، بـه انـدازه لیپیـدهای جامد برای این تکنیک مناسب می‌باشند. از معایـب ایـن روش وجـود محتـوای بـالای آب، مشـکل خـروج آب اضافی، و استفاده از سورفکتانت و کمـک سـورفکتانت در غلظت بالا می باشد(۳۵).

۴-۳. تبخیر یا انتشار حلال امولسیون شده

در روش تبخیـر حـلال بوسـیله تـه نشـینی در امولسیون‌های o/w، چربی که در حلال آلـی حـل شـده، در حمام آب زیر همزن، در فاز آبی حاوی سـورفکتانت امولسیون می‌شود. عمل همزدن امولسیون روغـن در آب ایجاد شده، تا تبخیـر حـلال تحـت شـرایط معـین، ادامـه می‌یابد. فرآیند تبخیر حلال می‌توانـد تحـت فشـار پـایین (خلاء) انجام شود. به محـض تبخیـر حـلال، پراکنـدگی نـانو ذرات لیپیـدی بـه‌وسـیله تـه نشـینی مـواد لیپیـدی در محیط آبی شکل می‌گیـرد(۳۶). بسـته بـه چربـی جامـد و سـورفکتانت بـه‌کـار رفتـه، ذرات ۳۰ تـا ۱۰۰ نـانومتر را می‌توان به‌دست آورد. اندازه ذره‌ای حدود ۳۰ نـانومتر را می‌توان برای نانو ذرات کولستریل استات پایدار شـده بـا مخلوطی از فسـفاتیدیل کـولین و سـدیم گلیکوکـولات به‌دست آورد. دوری از گرمـا طـی رونـد آمـاده سـازی، یکی از مزیت‌های مهم این روش می‌باشد. به‌علـت عـدم حل شدن کامل در فـاز آلـی در دمـای اتـاق، چربـی در حمام آب در فاز آلی حل می‌شود. اضافه کـردن آب بـه محلـول آلـی حاصـله توسـط همـزن مکـانیکی سـبب شکل‌گیری نانو ذرات لیپیدی می‌شود. نانو ذرات لیپیدی پراکنده بدست آمده سپس بـه‌وسـیله سـانتریفیوژ، تبخیـر حلال تحت خلاء یا به‌وسیله فیلتراسیون جدا مـی شـوند. از مدل تزریقی نیز می‌توان برای تولید نانو ذرات لیپیـدی استفاده نمود. پس از این‌که چربی در حلال قابل اختلاط با آب حل شد و به آن گرما داده شد تا دمای آن به نقطه ذوب خود برسد، به‌سرعت به‌وسیله یک سـرنگ بـه فـاز رقیق، همراه یـا بـدون سـورفکتانت، روی همـزن تزریـق مـی‌شـود. حاصـل ایـن پراکنـدگی بعـداً از درون فیلتـر کاغـذی جهـت خـروج چربـی‌هـای اضـافی عبـور داده می‌شود. نسبت حجمی امولسیون o/w بـه آب بـه منظـور شکل دهی نانو ذرات لیپیدی در محدوده ۱ به ۵ تـا ۱ بـه ۱۰ قرار دارد(۲۵). در روش‌های انتشـاری یـا حـلال‌هـای امولسـیون- تبخیـری، غلظـت ذرات (بـالای ۱۵ درصـد) سوسپانسیون‌های نسبتاً رقیق به‌دسـت آمـده کـه ناشـی از

www.SID.ir

Archive of SID

محدودیت انحلال چربی ها در حلال‌های آلی به‌کار رفته می‌باشد،کمتر از میزانی است که توسط یکنواخت نمودن با فشار بالا، به‌دست می‌آید. پراکندگی ذرات با محتوای چربی بالای تقریباً ۸۰ درصد را می‌توان به‌وسیله هموژنیزاسیون با فشار بالا به‌دست آورد. از معایب این روش باقی ماندن حلال‌های آلی مورد استفاده در مسیر تولید در محصولات نهایی و سمیت احتمالی ناشی از آن‌ها را می‌توان نام برد(۲۴).

۴-۴. امولسیون مختلط w/o/w

این روش بر مبنای حلالیت دارو که در داخل فاز داخلی امولسیون مختلط w/o/w به دام افتاده است، می‌باشد. از پایدار کننده نیز جهت جلوگیری از ورود دارو به فاز خارجی در طی تبخیر حلال استفاده می‌شود. محلول آبی حاوی دارو به همراه پایدار کننده با استفاده از همزن با سرعت زیاد و در دمای بالا، امولسیون می‌شود. سپس نانو امولسیون w/o گرم در فاز آبی حاوی پایدار کننده به عنوان فاز خارجی امولسیون w/o/w در دمای ۲ تا ۳ درجه سانتی گراد در زیر همزن مکانیکی تا رسیدن به نانو ذرات لیپیدی پراکنده می‌شود. نانو ذرات لیپیدی سپس بوسیله دیافیلتراسیون خالص سازی می گردد(۳۷).

۴-۵. هموژنیزاسیون با عملکرد بالا (High shear homogenization) و/یا اولتراسونیک کردن

هموژنیزاسیون با عملکرد بالا و روش اولتراسونیک دو تکنیک مجزا هستند که در آن‌ها از حلال‌های آلی، مقدار زیاد مواد افزودنی و سورفکتانت‌ها استفاده نمی‌شود. این تکنیک‌ها آسان بوده و نیازمند ابزاری هستند که در اغلب آزمایشگاه‌ها یافت می‌شود. در این روش، چربی ذوب شده به فاز آبی حاوی سورفکتانت، تحت هموژنیزاسیون با عملکرد بالا یا اولتراسونیک افزوده یا پراکنده می‌شود. سپس امولسیون در دمای اتاق سرد می شود(۳۸). پایین بودن کیفیت پراکنده شدن عیب این روش‌ها می‌باشد. کیفیت پراکنش این نانوذرات لیپیدی که به‌وسیله این روش‌ها تولید می‌شود اغلب تحت تأثیر حضور میکروذرات قرار می گیرد که منجر به ناپایداری فیزیکی طی زمان نگهداری می گردد. در این روش، غلظت چربی پایین (کمتر از ۱ درصد) و غلظت سورفکتانت به‌طور نسبی بالا می‌باشد. آلودگی فلزی مشکل دیگری است که در استفاده از اولتراسونیک به‌وجود می‌آید(۲۲).

۵-پایداری فیزیکی

۵-۱. اندازه ذره

تعیین اندازه ذرات، بهترین شناساگر ناپایداری می‌باشد و در ارزیابی محصولات مورد استفاده قرار می گیرد. میانگین اندازه ذره و توزیع آن اغلب یکی از مهم‌ترین پارامترهای مرتبط با کیفیت است که سایر خواص ماکروسکوپی مواد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سیستم‌هایی که به خوبی طراحی شده می‌بایست توزیع اندازه ذره‌ای باریکی را در زیر محدوده سایز میکرونی مثل لیپوزوم‌ها، اجسام کروی نانو(nanospheres) و نانو ذرات، مطابق با تعریف نانو ذرات کولوئیدی، که دارای اندازه زیر ۱ میکرو متر می باشد، نشان دهند(۳۹). ذرات بزرگ‌تر از ۱ میکرومتر و افزایش در تعدادشان طی زمان می‌توانند ناپایداری فیزیکی آن‌ها را نشان دهد. اندازه ذره‌ای نانوذرات لیپیدی به‌وسیله پارامترهای مختلفی مانند ترکیب فرمولاسیون (مانند نسبت سورفکتانت/ مخلوط سورفکتانت، میزان اختلاط دارو و چربی)، روش‌های تولید و شرایط محیط (مانند زمان، حرارت، فشار، تعدادسیکل، تجهیزات، استریلیزاسیون و لیوفیلیزاسیون) تحت تأثیر قرار می گیرد. این پارامترها برای دستیابی به محصولی باکیفیت به‌وسیله ارزیابی داده‌های بدست آمده از اندازه‌گیری های اندازه ذره‌ای مورد بررسی قرار می گیرد. غلظت سورفکتانت/ مخلوط سورفکتانت، به شکل بارزی بر روی اندازه ذرات نانوذرات لیپیدی تأثیر دارد. در کل، کوچک‌ترین اندازه

www.SID.ir

Archive of SID

ذرات زمانی مشاهده می‌شود که نسبت بالای سورفکتانت به چربی انتخاب شود(۴۰). کاهش غلظت‌های سورفکتانت باعث افزایش اندازه ذرات در طی نگهداری می‌شود(۴۱). ذرات بزرگ‌تر در فرایندهای حرارتی پایین‌تر به‌دست می‌آید. هموژنیزاسیون داغ در مقایسه با هموژنیزاسیون سرد اندازه ذره‌ای کوچک‌تر، اغلب کمتر از ۵۰۰ نانومتر و یک توزیع اندازه ذره‌ای مناسب‌تر را ایجاد می‌نماید. علاوه بر آن، هنگامی که که هموژنیزاسیون در زیر نقطه ذوب چربی جهت دستیابی به یک چربی نرم طی فرآیند هموژنیزاسیون با داروهای آب‌دوست انجام می‌گیرد، چربی نرم شده به‌راحتی می‌تواند پراکنده شود که این امر منجر به یک نواختی بیشتر محصول از لحاظ اندازه ذرات کوچک در مقایسه با هموژنیزاسیون سرد می‌شود. شرایط هموژنیزاسیون اثرات بحرانی بر توزیع اندازه ذره‌ای دارد. کارآیی هموژنیزاسیون با فشار بالا افزایش می‌یابد. براساس گزارشات، میانگین اندازه ذره‌ای همانند شاخص‌های پراکندگی (polydispersity index values) (PI)، با افزایش فشار هموژنیزاسیون بالای ۱۵۰۰ بار و تعداد دور (۳ تا ۷ دور)، کاهش می‌یابد. توزیع اندازه ذره‌ای مورد نیاز و میانگین اندازه ذره به‌وسیله ترکیبی از فشار هموژنیزاسیون و تعداد دورهای هموژنیزاسیون حاصل می‌گردد(۳۸).

براساس گزارشات، کاهش دمای فرآیند منجر به افزایش در اندازه ذره می‌شود که این امر منجر به افزایش ویسکوزیته چربی ذوب شده می‌گردد. اسپری دراینگ و لیوفلیزاسیون برای دستیابی به پایداری طولانی مدت محصولاتی که حاوی داروهایی قابل هیدرولیز شدن هستند یا محصولات مناسب برای مصارف تزریقی مورد نیاز می‌باشند افزایش انرژی جنبشی در هر دو مورد منجر به فراوانی برخورد ذرات می‌شود. شرایطی که طی فرایند لیوفیلیزاسیون منجر به خروج آب می‌گردد، ممکن است باعث ایجاد تجمع بین نانو ذرات شود. مقدار کافی از اغلب ضد یخ های مناسب می‌تواند از SLN در طی فریز دراینگ محافظت نماید(۳۶).

استریلیزاسیون نانو ذرات برای کاربردهای تزریقی مناسب می‌باشد و اتوکلاو برای فرمولاسیون‌هایی که دارای داروهای مقاوم به دما می‌باشند کاربردی می‌باشد. مقدار داروی وارد شده نیز مهم می‌باشد. غلظت بالای دارو باعث افزایش اندازه نانو ذرات چربی می‌شود در حالی‌که غلظت پایین دارو تا ۱ درصد، مطابق با اندازه‌گیری‌های PCS و LD منجر به تغییر در اندازه ذرات نخواهد شد. کوچک‌ترین اندازه ذره‌ای برای نانو ذرات لیپیدی وقتی مشاهده می‌شود که مقدار چربی کم باشد (در نهایت ۵ درصد) همچنین با افزایش محتوای چربی بازدهی هموژنیزاسیون به‌علت افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده کاهش می‌یابد. در انتخاب چربی می‌بایست سرعت کریستاله شدن چربی، میزان آب‌دوستی آن (که بر روی امولسیون خودبخودی مؤثر می‌باشد) و شکل کریستال‌های چربی (و بنابراین سطح آن‌ها) مد نظر قرار گیرد. اندازه ذره‌ای وابستگی زیادی به ترکیب امولسیفایر دارد و با افزایش در مقدار سورفکتانت اندازه ذره‌ای کاهش می‌یابد، که این کاهش اندازه ذره‌ای تا ۲-۳ درصد وزنی/ وزنی ادامه داشته و سپس دوباره افزایش می‌یابد. استفاده از مخلوطی از سورفکتانت در مقایسه با یک سورفکتانت از کارایی بیشتری برخوردار است. استفاده از سورفکتانت غیریونی نیز در مقایسه با سورفکتانت یونی اندازه ذره‌ای را بیشتر کاهش می‌دهد. چربی‌ها بیشتر تمایل دارند به حالت تخت کریستاله شوند که این شکل بیشتر در نانو ذرات لیپیدی مشاهده می‌شود و ذرات دوار بیشتر در نانو امولسیون‌ها مشاهده می‌گردد. شکل تخت نسبت به شکل گرد دارای سطح بیشتری است که برای پایداری به میزان بیشتری سورفکتانت نیاز دارد. مایعات حاوی نانو ذرات لیپیدی جامد بایستی طی ۱۲ تا ۳۶ ماه پایداری از خود نشان دهند. استفاده از ضد یخ به منظور کاهش تجمع نانو ذرات و پراکندگی مجدد بهتر نانو ذراتی که به صورت جامد درآمده‌اند (در اثر لیوفلیزاسیون) می‌تواند مفید باشد. سوربیتول، مانوز، تری هالوز گلوکز و پلی وینیل

www.SID.ir

Archive of SID

پیرولیدون به عنوان مواد محافظ مورد استفاده قرار می‌گیرند. بازدهی محافظتی محافظ‌ها به ترتیب عبارتند از: تری هالوز- ساکاروز-گلوکز و مالتوز. زمان اضافه کردن محافظ در کیفیت فرمولاسیون نیز مؤثر می باشد. بهترین نتیجه زمانی حاصل می‌شود که محافظ قبل از هموژنیزاسیون به نمونه اضافه شود. تری هالوز نسبت به سایر موارد در جلوگیری از تجمع ذرات در طی لیوفلیزاسیون و ایجاد ذرات ریزتر پس از ایجاد دوباره مؤثر تر واقع می‌شود، و مقدار پیشنهادی آن ۲ درصد می‌باشد. در طی تهیه نانو ذرات ممکن است حالت ژله‌ای شدن یعنی خروج نانو ذرات از بستر خود به علت عدم پوشش سطحی سورفکتانت رخ دهد که با استفاده از کمک سورفکتانت‌ها مثل گلیکوکولات قابل رفع می‌باشد. دمای بالا، در معرض نور قرار گرفتن و استرس مکانیکی ژلاسیون را در نانو ذرات تشویق می‌کند. نگهداری از ذرات در نور کم و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد از رشد ذرات جلوگیری می‌کند و چنان‌چه بر روی فرآورده به جای هوا نیتروژن باشد پایدارتر خواهد بود. مقدار بالای چربی و قدرت یونی بالا نیز ژلاسیون را تشویق می‌کند. پتانسیل زتا یک فاکتور اصلی در پیشگویی پدیده ژلاسیون می‌باشد. نمونه پایدار نمونه‌ای است که پتانسیل زتای آن در حدود منفی ۲۵ میلی ولت باشد. پتانسیل زتای منفی ۱۵ میلی ولت، شروع پدیده ژلاسیون را نشان می‌دهد. تبلور سریع چربی فرایند ژلاسیون را افزایش می دهد. بارگذاری دارو ممکن است باعث تغییر در خصوصیات نانو ذرات لیپیدی (توزیع اندازه ذره‌ای، پتانسیل زتا و تغییر و تحول چربی) شود. در بیشتر مطالعات بارگذاری دارو فقط در داخل ماتریکس چربی مد نظر قرار گرفته است در حالی‌که دارو در محل‌های دیگر نیز به هنگام تهیه قرار می‌گیرد که این مسئله به هنگام بیان نتایج یک مطالعه بایستی حتماً شرح داده شود. مشکل ژلاسیون باعث افزایش اندازه ذره‌ای و دفع دارو از حامل‌های لیپیدی مشکل اصلی در پایداری آن‌ها می‌باشد. همبستگی بالایی بین تغییرات چربی، ژلاسیون، تجمع ذرات و دفع دارو وجود دارد(۲۱).

۵-۲. بار الکتریکی ذرات و پتانسیل زتا

اندازه‌گیری پتانسیل زتا، پیش بینی پایداری پراکندگی کولوئیدها در شرایط نگهداری را امکان پذیر می‌سازد. به‌عبارتی دیگر، تجمع ذرات هنگامی که پتانسیل زتا یا بار الکتریکی ذرات بالاست، کمتر رخ خواهد داد. مطابق با گزارشات کاهش در پتانسیل زتا با کاهش پایداری فیزیکی مرتبط است. پتانسیل زتای بالاتر از منفی ۶۰ میلی ولت برای پایداری عالی و کمی بالاتر از منفی ۳۰ میلی ولت برای پایداری الکترواستاتیک خوب می‌باشد که منجر به پایداری فیزیکی خواهد شد. گرچه این قاعده برای سیستم‌هایی که حاوی پایدار کننده هستند صدق نخواهد کرد چراکه پایدارکننده‌ها با شیفت به سمت صفحه برشی ذرات پتانسیل زتا را کاهش می‌دهند. بر طبق گزارشات پتانسیل زتای SLN بعد از اتوکلاو به‌خصوص در رابطه با نانوذرات متشکل از اسیدهای چرب کاهش می‌یابد(۳۲).

۵-۳. بلورسازی

ویژگی‌های درجه کریستالیزاسیون چربی نیز از جمله مواردی می‌باشند که باید مورد توجه ویژه قرار گیرند، زیرا در تعیین کیفیت محصول بسیار مؤثر می‌باشند. پراکندگی امولسیفه شده می‌بایست تا زیر درجه حرارت بحرانی کریستاله شدن چربی، جهت تبلور نانو ذرات در طی روند تولید خنک شود. چنان‌چه به این درجه حرارت بحرانی نرسد، ذرات در حالت مایع باقی خواهند ماند و قطرات مایعی که مطلوب روند تولید نمی‌باشد، به‌دست خواهد آمد. تغییر وضعیت پلی‌مورفیک طی شکل گیری نانو ذرات جامد مهم می‌باشد. روش تولید، حضور سورفکتانت، نقطه ذوب چربی، غلظت چربی و اندازه ذرات از عواملی هستند که می‌توانند بر روی رفتارهای بلورسازی تأثیر گذار باشند. روش هموژنیزاسیون بر روی موقعیت پلی مورفیک

www.SID.ir

Archive of SID

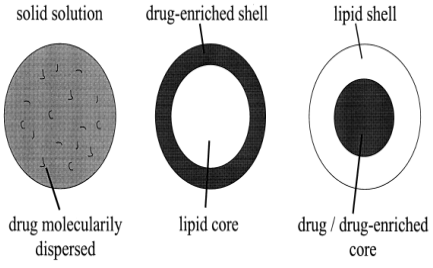
سیستم نیز تأثیر گذار است. هنگامی که از هموژنیزاسیون سرد استفاده می‌شود چربی ذوب شده در نیتروژن مایع منجمد می‌گردد و در دمای اتاق یا پایین‌تر هموژنیزاسیون انجام می‌گیرد و در این زمان چربی حتماً در حالت جامد می‌باشد. نوع سورفکتانت/ مخلوط سورفکتانت برای کینتیک پلی مورفیک چربی‌ها و درجه حرارت بلورسازی فاز پراکنده مؤثر می‌باشد. پایدار کننده‌ها علاوه بر اثر بر روی حالات کولوئیدی فاز پراکنده (مانند اندازه ذرات و پایداری) بر روی ساختار داخلی ذرات که پارامتر مهمی برای توسعه حامل‌ها بر مبنای نانو سوسپانسیون‌های لیپیدی هستند نیز اثرگذار می‌باشند(۴۲). غلظت چربی نیز بر حالت پلی‌مورفیک مؤثر است. غلظت پایین چربی مانند ۲/۵ درصد w/w باعث تخریب شکل‌گیری بلور می‌شود. بین نسبت آزادسازی و تداخل دارو و تبلور چربی ها همبستگی بالایی وجود دارد(۴۱).

۶- فاکتورهای موثر بر ورود دارو به داخل SLN و NLC

فاکتورهای مؤثر بر ظرفیت بارگیری دارو در چربی عبارتند از:

- حلالیت دارو در چربی ذوب شده
- قابلیت اختلاط دارو و چربی ذوب شده
- ساختار فیزیکی و شیمیایی ماتریکس چربی جامد
- حالات پلی مورفیک مواد لیپیدی (۱۵)

مدل‌های ورود دارو به SLN در تصویر شماره ۴ مشاهده می شود:



تصویر شماره ٤: مدل ورود اجزاء فعال به درون SLN : ماتریکس هموژنیز شده محلول جامد (چپ)، داروی فاقد هسته با غشاء غنی شده دارو (وسط)، هسته داروی غنی شده با غشاء لیپیدی (راست)

در رابطه با مدل محلول جامد، دارو بصورت مولکولی هنگامی که ذرات به‌وسیله تکنیک هموژنیزاسیون سرد تولید می‌شود و هیچ‌گونه سورفکتانتی در آن استفاده نشده باشد در ماتریکس لیپیدی پراکنده می‌شود. دارو قویاً با چربی تداخل می‌یابد که این امر توسط رفتارهای ذوب ماتریکس لیپیدی قابل تعیین می باشد. با استفاده از ذرات لیپیدی جامد آزادسازی طولانی مدت دارو به مدت چند هفته قابل دستیابی خواهد بود. بر اساس نحوه ورود دارو به غشاء، دارو از فاز روغن مایع به فاز آبی در طی هموژنیزاسیون داغ انتقال می یابد. انتقال به داخل فاز خارجی به‌وسیله حالت مایع ذرات تسهیل می‌شود. مقدار داروی منتقل شده با حلالیت دارو در فاز آبی و با افزایش درجه حرارت افزایش می‌یابد. اشباع حلالیت دارو در فاز آبی در دمای بالا بیشتر خواهد بود. در طی خنک شدن نانو امولسیون O/W تولیدی حلالیت دارو در فاز آبی به‌طور پیوسته با کاهش دما، کاهش می یابد و ورود دوباره دارو به داخل فاز چربی رخ می‌دهد. هنگامی که به دمای تبلور دوباره چربی می‌رسد هسته چربی جامد شکل می‌گیرد. کاهش درجه حرارت پراکندگی باعث فشار بیشتر بر روی دارو برای ورود بیشتر به داخل فاز چربی بخاطر کاهش حلالیت آن در آب می‌گردد(۱۰).

۷. بارگیری دارو و رهش کنترل شده آن

بارگیری دارو تأثیر بسزایی بر ویژگی‌های SLN (مانند توزیع اندازه ذره‌ای، پتانسیل زتا، تغییرات چربی و ...) دارد. جایگاه بارگیری دارو در این نانو ذرات بر رهش دارو و عملکرد این ذرات مؤثر می‌باشد. در بسیاری از نانوذرات تهیه شده به صورت SLN معمولاً یک رهش ابتدایی سریع مشاهده می‌گردد، و نکته جالب آن‌که تغییر فاکتورهای دخیل بر روند تولید، تأثیر مستقیمی بر آزادسازی دارد(۱). از جمله مهم‌ترین عوامل مؤثر بر رهش دارو می توان به موارد زیر اشاره نمود:

- رابطه معکوسی بین سرعت آزادسازی دارو و

www.SID.ir

Archive of SID

ضریب ورود دارو به نانو ذرات وجود دارد. هرچه دارو بیشتر در سطح بارگیری شده باشد آزادسازی سریع‌تر و هرچه به داخل این ذرات نفوذ کرده باشد، سرعت رهش کمتر می گردد.

- افزایش سطح عامل مهم دیگری می‌باشد؛ هرچه اندازه ذرات کوچک‌تر باشد، آزادسازی دارو با سرعت بیشتری صورت می پذیرد.

- هموژنیزه نمودن داروی پراکنده شده در ماتریکس لیپیدی، آزاد سازی آهسته دارو را بدنبال خواهد داشت.

- تبلور کم حامل های لیپیدی و تحرک بالای مولکول‌های دارو منجر به آزادسازی سریع‌تر دارو خواهد شد. موارد ذکر شده اهمیت پارامترهای تولیدی در کنترل آزادسازی دارو را توضیح می‌دهد. هنگامی که هموژنیزاسیون سرد انجام می گیرد، دارویی که به فاز لیپیدی راه یافته است در طی مرحله تولید در وضعیت جامد باقی خواهد ماند. پویایی دارو کاهش می یابد و مقدار بالایی از دارو در مقایسه با هموژنیزاسیون داغ به دام می افتد یعنی ورود به داخل فاز آبی در حداقل قرار می گیرد، و در نتیجه آزادسازی دارو در مقایسه با روش هموژنیزاسیون داغ طولانی‌تر خواهد شد(۴۵).

۸- دستگاه‌های تشخیصی در روند تهیه NLC و SLNها میکروسکوپ نوری و الکترونی

روش میکروسکوپی یک روش مستقیم در تعیین اندازه ذره‌ای بوده و به سایر فاکتورهایی که ممکن است بر روی اندازه‌گیری اثر بگذارند مانند حرارت و غیره وابسته نیست. برای اندازه‌گیری اندازه ذرات بصورت مستقیم از میکروسکوپ نوری و الکترونی استفاده می‌شود. استفاده از میکروسکوپ نوری کمک خواهد نمود که فرق بین ذرات بزرگ تشخیصی توسط تفرق لیزری و نانو ذراتی که به هم چسبیده‌اند مشخص گردد. از میکروسکوپ الکترونی (Scaning Electron Microscopy (SEM)) نیز برای مشخص کردن شکل ذرات ایجاد شده و اندازه گیری اندازه این ذرات استفاده می‌شود(۲۹).

Atomic Force Microscopy (AFM)

نوعی از میکروسکوپ الکترونی می‌باشد که سادگی در تهیه نمونه عدم نیاز به خلا در طی تهیه، استفاده از آن را موجه می‌سازد. این دستگاه قادر به آنالیز آب یا حلال‌های موجود در نمونه می‌باشد. با استفاده از یک قطره از نمونه این دستگاه قادر به ارزیابی خواهد بود. این دستگاه قادر به ارزیابی نمونه حدود ۲۰ ثانیه در هر عکس و همچنین مشاهده فرآیند در محل می‌باشد. در تصویری که توسط این دستگاه به‌دست می‌آید هاله نرم اطراف نانو ذرات کریستالی نیز نمایش داده می‌شود. در مطالعه ای که بر روی نانو ذرات لیپیدی ستیل پالمیتات (پایدار شده به‌وسیله پلی گلیسرول متیل گلوکز دی استئارات) با میکروسکوپ الکترونی و AFM انجام گرفت نشان داده شد که ذرات در هر دو روش کروی شکل بودند و طی مطالعه‌ای دیگر که با استفاده از چربی کاملاً خالص مانند تری گلیسرید انجام پذیرفت، نانو ذرات مکعبی و مسطح با این دستگاه مشاهده شد(۴۳).

Field–Flow-Fractionation (FFF)

هم نوع خاصی از AFM می باشد که از وضوح تصویری بالاتری نسبت به سایر روش‌ها برخوردار می‌باشد. در این روش ذرات نیز از هم قابل جدا شدن می‌باشند که بیشتر می‌توان خصوصیات ذرات را مورد مطالعه قرار داد. رقیق سازی زیاد نمونه با این روش ممکن است از دیدگاه پتانسیل مشکل ایجاد کند، که این مشکل ممکن است خصوصیات نمونه را دچار خدشه نماید (برای مثال رقیق سازی نمونه ممکن است سبب خروج سورفکتانت از سطح ذرات شود) (۴۳).

Photon Correlation Spectroscopy (PCS)

تکنیکی است که در تعیین میانگین قطر اندازه ذرات، وسعت توزیع اندازه ذره ای (PI) و تعیین پتانسیل زتا استفاده می‌شود(۴۵).

www.SID.ir

Archive of SID

Differential scanning calorimetry (DSC)

این تکنیک در تعیین خصوصیات ذراتی که تولید شده به‌کار می‌رود. از این تکنیک در تعیین وضعیت و درجه تبلور چربی‌های پراکنده، سیستم‌های شبه جامد، پلیمرها و لیپوزوم ها استفاده می‌شود. از این تکنیک در مطالعه رفتارهای ذوب و تبلور مواد بلوری مانند نانو ذرات لیپیدی نیز استفاده می‌گردد(۴۶). این تکنیک برای فهمیدن پراکندگی جامدات مانند محلول‌های جامد، NLC، تقابل بین دارو و چربی و مخلوط چربی‌های جامد و چربی‌های مایع (روغن‌ها) استفاده می‌شود. DSC اطلاعاتی در رابطه با رفتارهای ذوب و تبلور مواد بلوری مانند نانوذرات لیپیدی را مشخص می‌نماید(۴۷).

X-ray spectroscopy

این روش نوعی از اسپکتروسکوپی می‌باشد که به منظور آنالیزهای ابتدایی یا ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌ها مانند پراکندگی مولکولی دارو در ذرات استفاده می‌شود(۱۰، ۲۹). پیشنهاد می‌شود که تنها از نانو ذرات لیپیدی X-ray گرفته شود چراکه ممکن است حلال خارج شده تغییراتی ایجاد نماید. حساسیت کم این روش و مدت زمان اندازه گیری طولانی از معایب آن می‌باشد(۴۳).

Laser Diffractometry (LD)

تکنیکی است که برای تعیین اندازه ذرات بین ۱۰ نانومتر تا ۲۰۰۰ میکرومتر به‌کار می رود(۴۴). مزیت LD نسبت به روش‌های دیگر این است که توانایی اندازه‌گیری ذرات از سایز نانو تا میلی‌متر را دارد که در روش اول این قدرت به میکرومتر ختم می‌شود(۴۳). DSC، X-ray و NMR به‌طور گسترده‌ای در بررسی رفتارهای ترمودینامیکی و حالات چربی استفاده می‌شوند(۴۱).

Infrared و Raman spectroscopy

این دو مورد نیز از روش‌های مؤثری برای مطالعه ساختار چربی‌ها می‌باشند. رقیق کردن نانو ذرات لیپیدی با آب ممکن است سبب خروج مولکول‌های سورفکتانت از سطح ذرات شود که می‌تواند سبب تغییرات بیشتر شامل کریستالیزاسیون یا تغییر ساختار چربی شود. بنابراین نیاز به روشی است که بتواند انواع کولوئیدها را شناسایی کرده و نیاز به آماده سازی اولیه نداشته باشد. Nuclearmagnetic Resonance (NMR) و Electron Spin Resonance (ESR) روش‌هایی هستند که این خواسته را برآورده می‌سازند(۴۳).

High performance liquid chromatography (HPLC)

این روش، روشی مناسب و دقیق در تعیین مقدار مواد و/یا پایداری شیمیایی آن‌ها می باشد(۲۹).

۹-کاربرد سیستم های SLN و NLC

کاربرد تزریقی: SLN ها عموماً به داخل ورید، ماهیچه یا زیر جلدی تزریق می‌شوند. از آن‌جایی که اندازه ذرات کمتر از ۱ میکرومتر می‌باشد، از این سیستم‌ها می‌توان با داشتن حداقل خطر لختگی خون که منجر به آمبولی خواهد شد استفاده نمود. اندازه ذرات جهت تزریق داخل وریدی برای جلوگیری از ایجاد آمبولی بایستی در زیر ۵ میکرومتر قرار داشته باشد. کاربرد خوراکی: استفاده از این سیستم‌ها به‌دلیل قابلیت آن‌ها در تنظیم آزادسازی دارو در حین عبور از قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش و همچنین محافظت در برابر تجزیه شیمیایی داروهایی که برای صفرا تهیه شده‌اند مانند داروهای پپتیدی بسیار مؤثر می‌باشد. بر طبق گزارشات آزادسازی دارو در شرایط آزمایشگاهی از چند دقیقه تا ۷ هفته بوده است. تجزیه SLN که با ماتریکس موم تهیه شده است در مقایسه با ماتریکس‌های گلیسیریدی آهسته‌تر انجام می‌گیرد(۴۸). در مطالعه‌ای که توسط مولر و همکاران در سال ۲۰۰۶ به منظور بهبود فرمولاسیون خوراکی سیکلوسپورین A با استفاده از SLN در مقایسه با سندیمم نئورال/ اوپتورال تجاری انجام گرفت نشان داده شد طی ۲ ساعت میزان

www.SID.ir

Archive of SID

پیک پلاسمایی دارو در نوع تجاری دارو به حداکثر خود (۱۰۰۰ نانومتر) رسیده بود در حالی که استفاده از داروی بارگذاری شده در SLN حداقل پراکنش را دربرداشته است و پیشنهاد گردید با توجه به این که میزان غلظت دارو به بیشتر از ۱۰۰۰ نانومتر/ میلی لیتر نمی‌رسد استفاده از آن عوارضی را در بر نخواهد داشت. در این مطالعه نشان داده شد که استفاده از SLN به عنوان حامل دارو برای استفاده خوراکی حداقل پراکنش را در فراهمی زیستی دارو ایجاد کرده و به صورت خودبه‌خود از رسیدن به حداکثر پیک پلاسمایی که با خوردن دارو با فرمولاسیون قبلی ایجاد می‌شد جلوگیری به عمل می‌آید(۴۹).

استفاده خوراکی نانو ذرات لیپیدی می‌تواند به اشکال قرص، پلت یا کپسول‌ها انجام شود. با توجه به شرایط معده یعنی وجود اسید و نیروی یونی قوی محیط مناسب برای تجمع ذرات خواهد بود. انتظار می رود که غذا نیز اثر بزرگی بر روی عملکرد نانو ذرات لیپیدی داشته باشد گرچه هیچ‌گونه داده‌ای در این رابطه وجود ندارد. این‌که اثر لیپاز معده و پانکرآس بر روی تجزیه داخل بدنی نانو ذرات چه خواهد بود، متاسفانه تاکنون مطالعات درون تنی کمی پیرامون آن صورت گرفته است(۲۱). کاربرد تنفسی: لیو و همکاران در سال ۲۰۰۸ توانستند با بارگذاری انسولین در SLN آن‌را به عنوان حاملی برای استفاده تنفسی و انتقال سیستمیک پروتئین‌ها معرفی نمایند(۵۰).

کاربرد موضعی: نانو ذرات لیپیدی (SLN) به علت داشتن چربی‌های فیزیولوژیک یا تجزیه پذیر به عنوان سیستم‌های حامل با تحمل بالا برای مصارف پوستی مطرح می‌باشند. پتانسیل نانو ذرات لیپیدی در هدفمند کردن پوستی، کنترل در آزادسازی، عوارض پوستی کم و محافظت از ترکیبات فعال اثبات شده می باشد. نشان داده شده است که اندازه کوچک ذرات در نانو ذرات

جدول شماره ۲: نمونه ای از محصولات بهداشتی موجود در بازار حاوی نانو ذرات لیپیدی (۴۳)

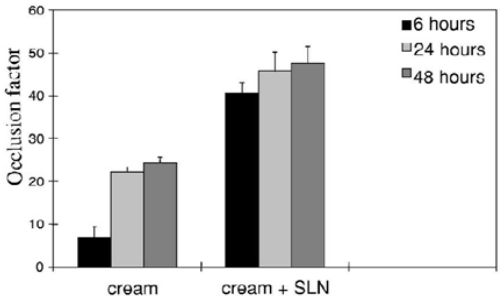
نام فراورده	سازنده	زمان ارائه	مواد متشکله اصلی
Cutanova Cream Nano Repair Q10	Dr. Rimpler	10/2005	Q 10, polypeptide, hibiscus extract, ginger extract, Ketosugar
Intensive Serum NanoRepair Q10		10/2005	Q 10, polypeptide, mafane extract
Cutanova Cream NanoVital Q10		06/2006	Q 10, TiO2, polypeptide, ursolic acid, oleanolic acid, sunflower seed extract
SURMER Crème Legère Nano-Protection	Isabelle Lancray	11/2006	Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, nonixtract
SURMER Crème Riche Nano-Restructurante			Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, noni extract
SURMER Elixir du Beauté Nano-Vitalisant			Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, nonixtract
SURMER Masque Crème Nano-Hydratant			Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, Milk extract from coconut, wild indigo, noni extract
NanoLipid Restore CLR	Chemisches Laboratorium	04/2006	Black currant seed oil containing □-3 and □-6 Nsaturated fatty acids
Nanolipid Q10 CLR	Dr. Kurt Richter, (CLR)	07/2006	Coenzyme Q10 and black currant seed oil
Nanolipid Basic CLR		07/2006	Caprylic/capric triglycerides
NanoLipid Repair CLR		02/2007	Black currant seed oil and manuka oil
IOPE SuperVital	Amore Pacific	09/2006	Coenzyme Q10, □3 and □ 6 unsaturated fatty acids
Cream	Beate Johnen	12/2006	Coenzyme Q10, highly active oligo saccharides
Serum			Q10, TiO2, highly active oligo saccharides
Eye cream			Q10, acetyl hexapeptide-3, micronized plant collagen, high active
Extra moist softener			oligosaccharides in
Extra moist emulsion			polysaccharide matrix
NLC Deep Effect Eye Serum			
NLC Deep Effect Repair Cream			
NLC Deep Effect Reconstruction Cream			
NLC Deep Effect Reconstruction Serum	Scholl	6/2007	Macadamia ternifolia seed oil, avocado oil, urea, black currant seed oil
Regenerationscreme Intensiv			
Swiss Cellular White Illuminating Eye Essence	La prairie	1/2007	Glycoprotiens, panax ginseng root extract, Equisetum arvense extract, Camellia sinensis leaf extract, viola tricolor extract
Swiss Cellular White Intensive Ampoules		1/2007	Glycoprotiens, panax ginseng root extract, Quisetum arvense extract, Camellia sinensis leaf extract, viola tricolor extract
SURMER Creme Contour Des Yeux Nano-Remodelante	Isabelle Lancray	03/2008	Kukuinut oil, Monoi Tiare Tahiti®, pseudopeptide, hydrolized wheet protein
Olivenl Anti Falten Pflegekonzentrat	Dr. Theiss	02/2008	Olea europaea oil, panthenol, acacia senegal, Tocopheryl acetate
Olivenl Augenpflegebalsam			Olea Europaea oil, prunus amygdalus dulcis oil, Hydrolyzed milk protein, tocopheryl acetate, rhodiola rosea root extract, caffeine

www.SID.ir

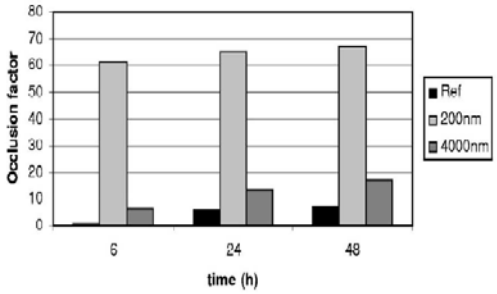
Archive of SID

لیپیدی حضور نانو ذرات را در تماس مستقیم با لایه شاخی بهبود و ورود عوامل انکپسوله شده به داخل پوست را تضمین می‌نماید. جدول شماره ۲ نمونه‌ای از محصولات آرایشی موجود در بازار که بر پایه نانوذرات لیپیدی تهیه شده‌اند نشان می‌دهد(۵۱). SLN را می‌توان با اشکال تجاری موجود نیز آمیخت بدون آن‌که فرمولاسیون آن دچار تغییر گردد مثل کرم روز آرایشی که افزودن SLN سبب افزایش در قدرت پوشانندگی آن می‌شود. اولین مدل برای فرمولاسیون فیلم بر روی پوست به‌وسیله SLN توسط مولر و دینگنر معرفی گردید(۱۰).

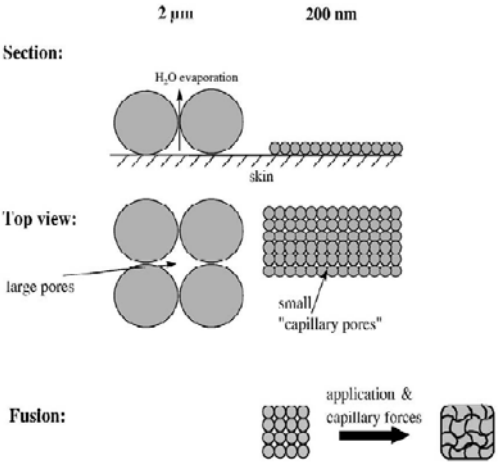
تا سال ۲۰۰۲ هیچ‌گونه مطالعه‌ای در رابطه با اثر SLN بر روی رطوبت و کشسانی پوست انجام نگرفته بود گرچه مطالعاتی توسط برخی شرکت ها انجام گرفت اما نتایج گزارش نگردید. در مطالعه که توسط ویسینگ و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام گرفت نشان داد که که اضافه کردن SLN به فرمولاسیون تجاری پایدار شده سبب افزایش رطوبت پوستی به میزان ۳۲ درصد خواهد شد در حالی‌که فرمولاسیون تجاری خالص میزان رطوبت پوستی را به میزان ۲۴ درصد افزایش داده بود(۱۰).



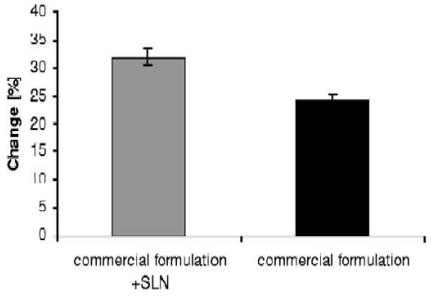
تصویر شماره ۵: فاکتور پوشانندگی کرم O/W تجاری (چپ) و کرم با ۴ درصد SLN وارد شده (راست) (۱۰)



تصویر شماره ۶: قدرت پوشانندگی SLN ۲۰۰ نانومتری در مقابل ذرات لیپیدی ۴ میکرومتری (۱۰)



تصویر شماره ۷: نمونه ای از تشکیل فیلم روی پوست برای ذرات چربی ۲ میکرومتری و ذرات چربی ۲۰۰ نانو متری (بالا) نمای بالا (وسط) و مدل تازه آمیزش نانو ذرات به داخل خلل و فرج فیلم (پایین) (۱۰)



تصویر شماره ۸: رطوبت پوستی ناشی از فرمولاسیون تجاری (راست) و فرمولاسیون تجاری پس از اضافه کردن ۴ درصد SLN (چپ) (۱۰)

References

1. Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. Adv Drug Del Rev 2001; 47(2-3): 165-96.

www.SID.ir

2. Hsu SH, Wen CJ, Al-Suwayeh SA, Chang HW, Yen TC, Fang JY. Physicochemical characterization and in vivo bioluminescence imaging of nanostructured lipid carriers (NLCs) for targeting the brain: apomorphine as a model drug. Nanotechnol 2010; 21: 405101 (abstract).
3. Akbari J, Enayatifard R, Saeedi M, Saghafi M. Influence of Hydroxypropyl Methylcellulose Molecular Weight Grade on Water Uptake, Erosion and Drug Release Properties of Diclofenac Sodium Matrix Tablets. Trop J Pharm Res 2011; 10(5): 535-541.
4. Akbari J, Nokhodchi A, Farid D, Adrangui M, Siahi-Shadbad MR, Saeedi M. Development and evaluation of buccoadhesive propranolol hydrochloride tablet formulations: effect of fillers. Il Farmaco 2004; 59: 155-161.
5. Enayatifard R, Saeedi M, Akbari J, Haeri Tabatabaee Y. Effect of Hydroxypropyl Methylcellulose and Ethyl Cellulose Content on Release Profile and Kinetics of Diltiazem HCL from Matrics. Trop J Pharm Res 2009; 8(5): 425-432.
6. Müller RH. Lipid nanoparticles: recent advances, Adv Drug Deliv Rev 2007; 59(6): 375-376.
7. Lim SJ, Kim CK. Formulation parameters determining the physiochemical characteristics of solid lipid nanoparticles loaded with all-trans retinoic acid. Int J Pharm 2002; 243: 135-146.
8. Kim BD, Na K, Choi HK. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles (SLN) made of cacao butter and curdlan. Eur J Pharm Sci 2005; 24: 199-205.
9. Kheradmandnia S, Vasheghani-Farahani E, Nosrati M, Atyabi F. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba. Nanomed Nanotechnol Biol Med 2010; 6: 753–759.
10. Muller RH, Radtke M, Wissing SA. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. Adv Drug Del Rev 2002; 54 Suppl: 1 S131–S155.
11. Jenning V, Lippacher A, Gohla SH. Medium scale production of solid lipid nanoparticles (SLN) by high pressure homogenization, J Microencapsul 2002; 19: 1–10.
12. Fang JY, Fang CL, Liu CH, Su YH. Lipid nanoparticles as vehicles for topical psoralen delivery: solid lipid nanoparticles (SLN) versus nanostructured lipid carriers (NLC). Eur J Pharm Biopharm 2008; 70: 633–640.
13. Puglia C, Blasi P, Rizza L, Schoubben A, Bonina F, Rossi C, et al. Lipid nanoparticles for prolonged topical delivery: an in vitro and in vivo investigation. Int J Pharm 2008; 357: 295–304.
14. Müller RH, Mäder K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery- a review of the state of the art. Eur J Pharm Biopharm 2000; 50: 161-77.
15. Driscoll DF. Lipid injectable emulsions: pharmacopeial and safety issues. Pharm Res 2006; 23: 1959–1969.
16. Siepmann F, Muschert S, Flament MP, Leterme P, Gayot A, Siepmann J. Controlled drug release from Gelucire-based matrix pellets: experiment and theory. Int J Pharm 2006; 317: 136–143.
17. Chambin O, Jannin V. Interest of multifunctional lipid excipients: case of Gelucire® 44/14. Drug Del Ind Pharm 2005; 31: 527–534.
18. Shimpi SL, Mahadik KR, Paradkar AR. Study on mechanism for amorphous drug

www.SID.ir

Archive of SID

stabilization using Gelucire 50/13. Chem Pharm Bull 2009; 57: 937–942.

19. Constantinides PP, Tustian A, Kessler DR. Tocol emulsions for drug solubilization and parenteral delivery. Adv Drug Deliv Rev 2004; 56: 1243–1255.
20. Ming-Jun T, Pao-Chu W, Yaw-Bin H, Jui-Sheng C, Chin-Lin L, Yi-Hung T, et al. Baicalein loaded in tocol nanostructured lipid carriers (tocol NLCs) for enhanced stability and brain targeting. Int J Pharm 2012; 423: 461– 470.
21. Wolfgang M, Karsten M. Solid lipid nanoparticles Production, characterization and applications. Adv Drug Del Rev 2012; 64: 83-101.
22. Wissing SA, Kayser O, Müller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery, Adv Drug Deliv Rev 2004; 56: 1257-1272.
23. Priano L, Esposti D, Esposti R, Castagna G, De Medici C, Fraschini F, et al. Solid lipid nanoparticles incorporating melatonin as new model for sustained oral and transdermal delivery systems, J Nanosci Nanotechnol 2007; 7(10): 3596-601.
24. Trotta M, Debernardi F, Caputo O. Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification–diffusion technique, Int J Pharm 2003; 257:153–160.
25. Schubert MA, Mu¨ller-Goymann CC. Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles-evaluation of the method and process parameters, Eur J Pharm Biopharm 2003; 55:125–131.
26. Garcý-Fuentes M, Torres D, Alonso M. Design of lipid nanoparticles for the oral delivery of hydrophilic macromolecules, Colloid Surface B 2002; 27: 159-168.
27. Heurtault B, Saulnier P, Pech B, Proust JE, Benoit JP. Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. Biomaterials 2003; 24: 4283–4300.
28. El-Harati AA, Charcosset C, Fessi H. Influence of the formulation for solid lipid nanoparticles prepared with a membrane contactor, Pharm Dev Technol 2006;11(2): 153-157.
29. Hommoss, A. Nanostructured Lipid Carriers (NLC) in dermal and personal care formulations. Department of Biology, Chemistry and Pharmacy Berlin, Freie Universität Berlin. PhD thesis: 2008; 202.
30. Jinno J. Effect of particle size reduction on dissolution and oral absorption of a poorly water-soluble drug, cilostazol, in beagle dogs, J Control Release 2006; 111(1-2): 56-64.
31. Müller RH, Gohla S, Dingler A, Schneppe T. Large scale production of solid lipid nanoparticles (SLNTM) and nanosuspensions (Disso Cubes TM). In: Wise DL (Ed.), Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology 2000a; 359–376.
32. Uner, M. Preparation, characterization and physico-chemical properties of Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC): Their benefits as colloidal drug carrier systems: Pharmazie 2005; 61: 375–386.
33. Müller RH, Böhm BHL. Nanosuspensions, in Emulsions and Nanosuspensions for the Formulation of Poorly Soluble Drugs, Medpharm Scientific: Stuttgart 1998; 149-174.
34. Lander R, Manger W, Scouloudis M, Ku A, Davis C, Lee A. Gaulin homogenization: a mechanistic study, Biotechnol Prog 2000; 16(1): 80-5.
35. Shahgaldian P, Gualbert J, A¨ıssa K, Coleman AW. A study of the freeze-drying conditions of calixarene based solid lipid

www.SID.ir

nanoparticles, Eur J Pharm Biopharm 2003; 55: 181–184.

36. Cortesi R, Esposito E, Luca G, Nastruzzi C. Production of lipospheres as carriers for bioactive compounds. Biomaterials 2002; 23: 2283–2294.
37. Mei Z, Chen H, Weng T, Yang Y, Yang X. Solid lipid nanoparticle and microemulsion for topical delivery of triptolide. Eur J Pharm Biopharm 2003; 56: 189–196.
38. Heurtault B, Saulnier P, Pech B, Proust JE, Benoit JP. A novel phase inversion-based process for the preparation of lipid nanocarriers. Pharm Res 2002; 19(6): 875-80.
39. Bunjes H, Koch MHJ, Westesen K. Influence of emulsifiers on the crystallization of solid lipid nanoparticles. J Pharm Sci 2003; 92: 1509–1520.
40. Lippacher A, Muller RH, Mader K. Semisolid SLNTM dispersions for topical application: influence of formulation and production parameters on viscoelastic properties. Eur J Pharm Biopharm 2002; 53: 155–160.
41. Patravale VB, Ambarkhane AV. Study of solid lipid nanoparticles with respect to particle size distribution and drug loading. Pharmazie 2003; 58: 392–395.
42. Venkateswarlu V, Manjunath K. Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles. J Control Release 2004; 95: 627–638.
43. Pardeike J, Hommoss A, Müller RH. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. Int J Pharm 2009; 366: 170–184.
44. Keck C. Cyclosporine nanosuspensions: Optimised size characterisation & oral formulations. PhD thesis. 2006, Free University of Berlin: Berlin.
45. Thode K, Müller RH, Kresse M. Two-time window and multi angle photon correlation spectroscopy size and zeta potential analysis--highly sensitive rapid assay for dispersion stability, J Pharm Sci 2000; 89(10): 1317-1324.
46. Unruh T, Bunjes H, Westesen K, Koch MHJ. Investigations on the melting behavior of triglyceride nanoparticles, Colloid Polym Sci 2001; 279(4): 398-403.
47. Freitas C, Müller RH. Correlation between long-term stability of solid lipid nanoparticles (SLN) and crystallinity of the lipid phase, Eur J Pharm Biopharm, 1999, 47(2): 125-132.
48. Olbrich C. Entwicklung optimierter Lipid carrier und ihre Untersuchung in biologischen Systemen. PhD thesis, Freie Universita¨t Berlin 2002.
49. Müller RH, Rungea S, Ravelli V, Mehnert W, Th¨unemannc AF, Souto EB. Oral bioavailability of cyclosporine: Solid lipid nanoparticles (SLN®) versus drug nanocrystals Int J Pharm 2006; 317: 82–89.
50. Liu J, Gong T, Fu H, Wang C, Wang X, Chen Q, et al. Solid lipid nanoparticles for pulmonary delivery of insulin. Int J Pharm 2008; 356: 333–344.
51. Ghadiri M, Fatemi S, Vatanara A, Doroud D, Rouholamini Najafabadi A, Darabi M, Rahimi AA. Loading hydrophilic drug in solid lipid media as nanoparticles: Statistical modeling of entrapment efficiency and particle size. Int J Pharm 2012; 424: 128–137.

www.SID.ir